

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

GREICE KELI DE SOUZA ARNHOLD

**OBTENÇÃO DE QUERCETINA E KAEMPFEROL DAS CASCAS DE CEBOLA
AMARELA E ROXA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DO
EXTRATO**

PORTO ALEGRE - RS

2025

GREICE KELI DE SOUZA ARNHOLD

**OBTENÇÃO DE QUERCETINA E KAEMPFEROL DAS CASCAS DE CEBOLA
AMARELA E ROXA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DO
EXTRATO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao curso de Química Medicinal da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Química Medicinal.

Orientadora: Dra. Marisa Tsao

Coorientadora: Dra. Karine Rigon Zimmer

PORTO ALEGRE - RS

2025

RESUMO

As cascas de cebola, descartadas como resíduo, são fontes naturais de compostos bioativos, especialmente flavonoides com potencial antioxidante e antibacteriano. Este trabalho teve como objetivo extrair, isolar e caracterizar flavonoides das cascas de cebola roxa e cebola amarela, com foco na quantificação de Quercetina e Kaempferol, além de avaliar sua atividade antibacteriana. Os extratos foram obtidos por maceração com solução hidroalcoólica (etanol 60% v/v), e a análise química foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodos (CLAE-DAD). Os resultados mostraram maior rendimento de extração para a cebola roxa (16,05%) em comparação à amarela (7,99%). A Quercetina foi identificada em ambas as variedades, com concentração de 100,2 mg/g no extrato da cebola roxa e 66,6 mg/g na amarela. Já o Kaempferol (0,62 mg/g) foi detectado apenas na cebola amarela. A atividade antibacteriana dos extratos a 1 mg/mL foi avaliada por ensaio em disco difusão frente à *Escherichia coli* ATCC. Nos testes os extratos não apresentaram inibição frente à cepa testada, diferentemente do antibacteriano gentamicina (controle positivo). É importante ressaltar que houve dificuldades na solubilização dos extratos nos solventes utilizados para os ensaios microbiológicos, havendo a necessidade de testes complementares visando a melhoria da solubilidade, tendo em vista a conhecida atividade antibacteriana da Quercetina relatada na literatura. Conclui-se que as cascas de cebola são fontes promissoras de flavonoides, especialmente a Quercetina, com potencial aplicação funcional e farmacológica, sendo recomendada a continuidade das investigações quanto à atividade antibacteriana desses compostos frente a outras cepas bacterianas, além de avaliar métodos e alternativas que melhorem sua solubilidade.

Palavras-chave: Flavonoides. Quercetina. Kaempferol. Cebola. CLAE-DAD. Atividade antibacteriana.

ABSTRACT

Onion peels, commonly discarded as waste, are natural sources of bioactive compounds, especially flavonoids with antioxidant and antibacterial potential. This study aimed to extract, isolate, and characterize flavonoids from red and yellow onion peels, focusing on the quantification of quercetin and kaempferol, as well as evaluating their antibacterial activity. Extracts were obtained by maceration using a 60% (v/v) hydroalcoholic ethanol solution, and chemical analysis was performed by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detector (HPLC-DAD). Results showed a higher extraction yield for red onion (16.05%) compared to yellow onion (7.99%). Quercetin was identified in both varieties, with concentrations of 100.2 mg/g in red onion and 66.6 mg/g in yellow onion extracts. Kaempferol (0.62 mg/g) was detected only in the yellow onion. Antibacterial activity at 1 mg/mL was evaluated against *Escherichia coli* ATCC using the disk diffusion method. No inhibition zones were observed for the extracts, unlike the positive control (gentamicin). Difficulties in extract solubility were noted during microbiological assays, highlighting the need to explore alternative solvents with no bacterial growth interference. In conclusion, onion peels are promising sources of flavonoids, particularly quercetin, with potential functional and pharmacological applications. Further research is recommended to assess their antibacterial effects against other bacterial strains and under improved solubility conditions.

Keywords: Flavonoids. Quercetin. Kaempferol. Onion. HPLC-DAD. Antibacterial activity.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	JUSTIFICATIVA	8
3	OBJETIVOS	8
3.1	Objetivo geral	8
3.2	Objetivos específicos	8
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
4.1	Metabólitos secundários das plantas	9
4.2	Flavonoides	10
4.2.1	Quercetina e Kaempferol.....	12
4.3	Métodos de extração de flavonoides	15
4.4	Identificação e quantificação de flavonoides	16
4.5	Composição química das cebolas	17
4.6	Teste de atividade antibacteriana em disco difusão	18
5	PARTE EXPERIMENTAL	18
5.1	Materiais e reagentes	19
5.2	Coleta e preparo das amostras	20
5.3	Extração dos flavonoides	21
5.4	Identificação e quantificação dos flavonoides no extrato seco	22
5.4.1	Preparo de soluções	22
5.4.2	Identificação e quantificação de flavonoides por CLAE-DAD.....	23
5.5	Atividade antibacteriana	23
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
6.1	Rendimento da extração	24
6.2	Caracterização por CLAE-DAD	25
6.2.1	Padrões de Quercetina e Kaempferol	25
6.2.2	Análise quantitativa dos flavonoides nos extratos secos de casca de cebola amarela e roxa.....	29
6.3	Atividade antibacteriana	35
7	CONCLUSÃO	37

8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
----------	---	-----------

1. INTRODUÇÃO

A cebola (*Allium cepa* L.), pertencente à família *Amaryllidaceae*, é uma das hortaliças mais cultivadas e consumidas mundialmente, destacando-se pelo seu valor gastronômico e pelas propriedades funcionais e terapêuticas associadas à sua rica composição fitoquímica. A cebola apresenta variedades diversas, entre as quais se destacam a cebola roxa e a cebola amarela, amplamente cultivadas no Brasil. Ambas possuem características morfológicas e químicas distintas, que refletem em diferentes concentrações de compostos bioativos, especialmente os flavonoides (SALVADOR E PEREIRA, 2021; SLIMESTAD, *et al.*, 2007).

Os resíduos agroindustriais gerados a partir do processamento de vegetais têm despertado interesse por seu potencial de reaproveitamento. Nesse contexto, as cascas de cebola vêm sendo investigadas como fontes promissoras de compostos fenólicos com propriedades antioxidantes e antimicrobianas, pois estudos indicam que as cascas concentram significativamente mais flavonoides do que a polpa (SLIMESTAD, *et al.*, 2007).

Entre os flavonoides de maior interesse farmacológico presentes nas cebolas estão a Quercetina e o Kaempferol, ambos amplamente reconhecidos por sua capacidade de neutralizar radicais livres, modular enzimas inflamatórias e interagir com microrganismos patogênicos. No entanto, a variação na concentração desses compostos depende de diversos fatores, como o tipo de cultivar, a parte da planta analisada, o estágio de maturação e as condições de cultivo (SLIMESTAD, *et al.*, 2007; SINGH, *et al.*, 2021; LIGA, *et al.*, 2023). Diante disso, a extração e caracterização desses flavonoides a partir de resíduos vegetais como as cascas de cebola constituem uma estratégia relevante para obtenção de produtos de maior valor agregado, com potencial aplicação na produção de Ingredientes Farmacêuticos Ativos (IFAs), corantes, conservantes, para uso nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia.

Neste trabalho, propõe-se a extração, isolamento e caracterização dos flavonoides presentes nas cascas de cebola roxa e amarela, com foco na quantificação de Quercetina e Kaempferol, utilizando técnicas cromatográficas. Além disso, avalia-se a atividade antibacteriana dos extratos obtidos. A pesquisa busca contribuir para o aproveitamento de resíduos agroindustriais e fornecer dados que ampliem o conhecimento científico sobre os compostos bioativos presentes na casca de cebola.

2. JUSTIFICATIVA

O Brasil é um dos principais produtores de cebola, com uma produção estimada de 1,6 milhões de toneladas em 2023. Desse total, aproximadamente 600 mil toneladas correspondem a resíduos gerados durante o processamento, sendo a maior parte descartada. Entre esses resíduos, destaca-se a casca da cebola, uma fonte rica em flavonoides, como a Quercetina e o Kaempferol. Esses compostos são reconhecidos por suas diversas atividades biológicas, como ação antibacteriana, antioxidante, hipocolesterolêmica, entre outras. A recuperação de flavonoides presentes nas cascas de cebola representa uma alternativa para o reaproveitamento desses resíduos, contribuindo para práticas mais sustentáveis e alinhadas aos princípios da economia circular.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Extrair e quantificar a Quercetina e o Kaempferol obtidos de cascas de cebola roxa e cebola amarela e avaliar a atividade antibacteriana dos extratos secos das cascas de cebola amarela e roxa.

3.2 Objetivos específicos

- Estudar a composição química de flavonoides presentes na casca de cebola roxa e na casca de cebola amarela por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo Diodos (CLAE-DAD);
- Determinar o teor de Quercetina e Kaempferol no extrato seco;
- Avaliar a atividade antibacteriana dos extratos por meio do ensaio de difusão em disco frente a *Escherichia coli*.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

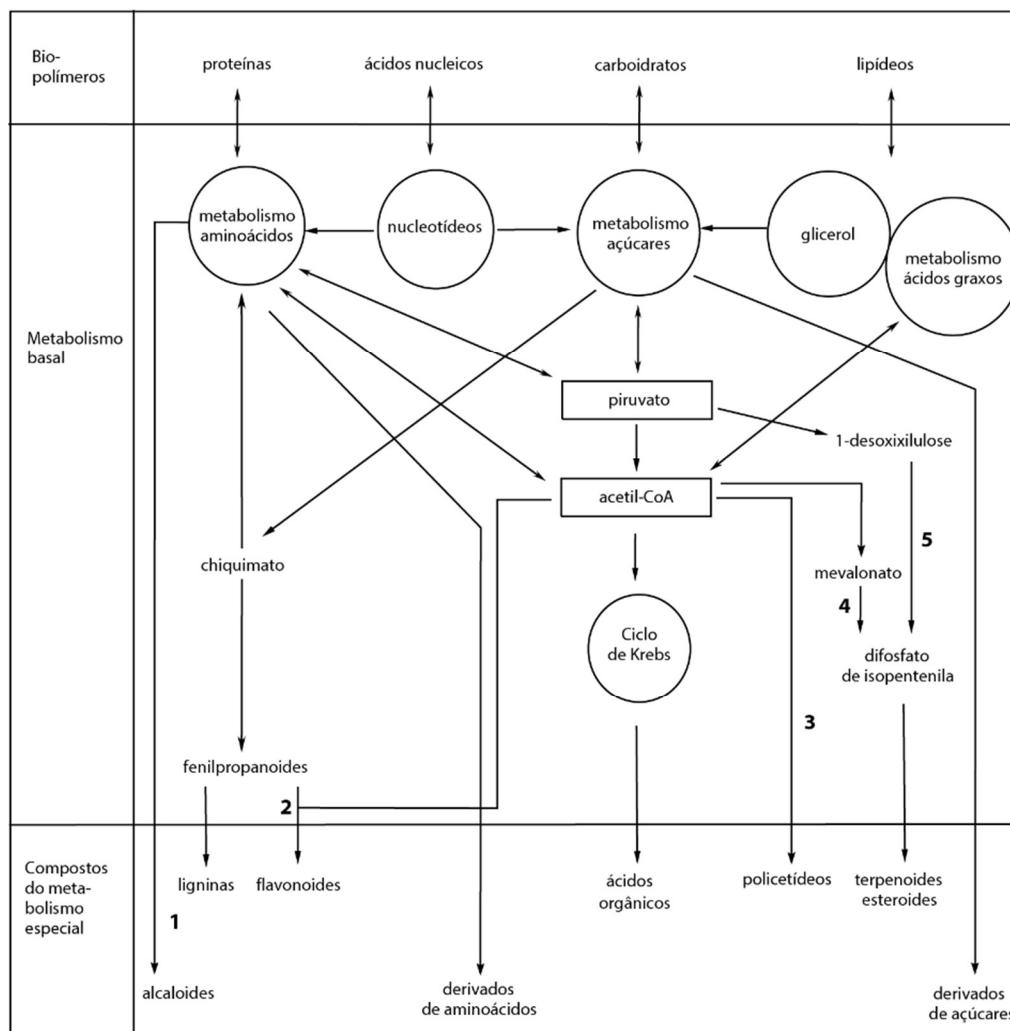
Essa revisão bibliográfica explora, inicialmente, os principais grupos de metabólitos secundários, com ênfase nos flavonoides, abordando sua classificação, rotas biossintéticas e propriedades estruturais. Em seguida, são descritas em detalhes as vias de biossíntese e os potenciais bioativos da Quercetina e do Kaempferol. O trabalho também apresenta os métodos de extração aplicados a material vegetal, as principais técnicas de caracterização instrumental dos flavonoides, e a composição fitoquímica das cebolas, destacando seu elevado conteúdo de compostos fenólicos, especialmente nas cascas. Por fim, é apresentada a aplicação do ensaio de disco-difusão em ágar como método para avaliar a atividade antibacteriana dos flavonoides extraídos.

4.1 Metabólitos secundários das plantas

As plantas produzem uma grande variedade de substâncias químicas, conhecidas como metabólitos, que são divididas em primários e secundários. Os metabólitos primários estão diretamente envolvidos nas funções essenciais das células vegetais, como a fotossíntese, o metabolismo de gorduras, proteínas e carboidratos, e a produção de energia. Eles são indispensáveis para o crescimento e o funcionamento normal da planta. Já os metabólitos secundários não participam diretamente dessas atividades vitais, mas desempenham funções específicas em diferentes partes da planta. A quantidade e o tipo desses metabólitos variam entre os órgãos da planta, pois cada um responde de maneira diferente aos fatores de estresse do ambiente, como luz intensa, disponibilidade hídrica, salinidade, entre outros (SINGH, *et al.*, 2021).

Foram identificados cerca de 100 mil metabólitos secundários em diversas espécies vegetais. Através das vias biossintéticas descritas na Figura 1, são formados os três principais grupos de metabólitos especializados, organizados com base em suas estruturas químicas, levando em conta aspectos biogenéticos: terpenóides, alcaloides e compostos fenólicos (SINGH, *et al.*, 2021; SIMÕES, *et al.*, 2017).

Figura 1 - Relações biossintéticas entre o metabolismo basal (primário) e especial (secundário). As rotas biossintéticas para a síntese de metabólitos especiais (secundários) ocorrem pelas seguintes vias: 1 via dos aminoácidos; 2 via do chiquimato; 3 via dos policetídeos; 4 via do ácido mevalônico; e 5 via do metileritritol fosfato (MEP).



Fonte: SIMÕES, *et al.*, 2017.

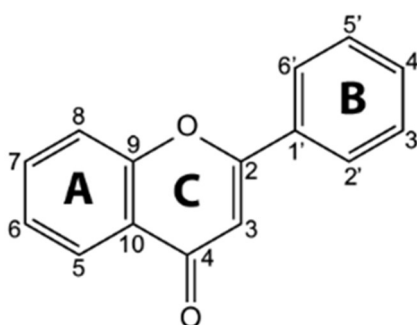
4.2 Flavonoides

Os flavonoides são compostos produzidos naturalmente pelas plantas. Esses compostos são encontrados em várias partes da planta, como caule, folhas, flores e frutos, e são produzidos especialmente quando ela reage a fatores externos. Entre suas principais funções, os flavonoides ajudam a dar cor, aroma e sabor a frutas, flores e vegetais. Essas características são importantes para atrair animais, como insetos e pássaros, que ajudam na polinização e na dispersão das sementes. Além disso, os flavonoides atuam como uma forma de proteção natural da planta,

ajudando a afastar insetos e outros organismos que poderiam prejudicá-la (SINGH, *et al.*, 2021; LIGA, *et al.*, 2023).

Os flavonoides são formados pela via biossintética do chiquimato (Figura 1) e podem ser classificados a partir do seu grau de hidroxilação e polimerização, classe estrutural, outras conjugações e substituições. Essas diferenças estruturais surgem em diversas partes do núcleo fundamental dos flavonoides (Figura 2) devido a processos químicos, como os que estão listados no Quadro 1.

Figura 2 – Núcleo Fundamental dos flavonoides.



Fonte: SIMÕES, *et al.* 2017.

Quadro 1 - Modificações Estruturais dos Flavonoides e suas Características (SINGH, *et al.*, 2021; LIGA, *et al.* 2023; SIMÕES, *et al.* 2017).

Modificação / Característica	Localização na Estrutura	Descrição / Efeito	Exemplos de Flavonoides Resultantes
Metilação	Principalmente no anel B (também no A)	Adição de grupo metil (-CH ₃); altera polaridade e estabilidade.	Quercetina-metilada, Kaempferol-metilado
Hidroxilação	C-5 e C-7 (anel A); C-4' e C-3' (anel B)	Adição de grupos hidroxila (-OH); em C-3' e C-4' forma grupo catecol.	Quercetina, Miricetina
Acilação	Diversas posições nos anéis	Adição de grupos acila (R-CO-); modifica lipofilicidade e reatividade.	Flavonoides acilados naturais e sintéticos
Glicosilação	Diversas posições (ex: orto da cadeia lateral no anel A)	Ligação com açúcares (glicose, ramnose etc.); aumenta solubilidade.	Rutina, Isoquercitina
Hidroxila na posição orto	Anel A	Pode ser glicosilada, metilada ou modificada com outros grupos.	Apigenina
Grupo carbonila (C=O)	Posição C-4 do anel C	Critério de classificação: presença define flavonóis e ausência define flavonas.	Luteolina (flavona), Kaempferol (flavonol)
Grupo catecol (duas OH)	C-3' e C-4' do anel B	Confere alta atividade antioxidante.	Quercetina

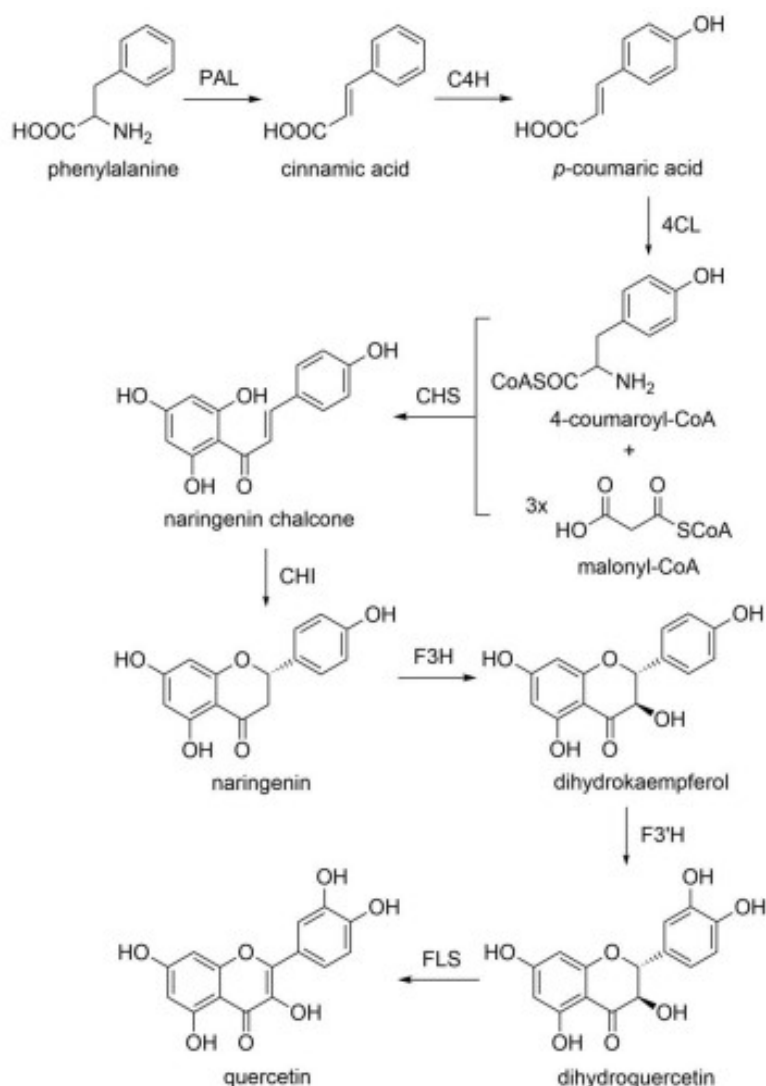
Fonte: Autoria própria, 2025.

A combinação desses fatores confere aos flavonoides propriedades químicas únicas e os torna capazes de desempenhar diversas atividades biológicas.

4.2.1 Quercetina e Kaempferol

A Quercetina é produzida nas plantas por meio da via fenilpropanoide. A biossíntese inicia-se com a conversão do aminoácido fenilalanina em ácido cinâmico, uma reação catalisada pela enzima fenilalanina amônia-liase (PAL). Na sequência, o ácido cinâmico é convertido em ácido p-cumárico pela ação da enzima cinamato 4-hidroxilase (C4H). O ácido p-cumárico se liga à coenzima A, formando 4-cumaroil-CoA, processo catalisado pela enzima p-cumarato ligase (4CL). A enzima chalcona sintase (CHS) então atua utilizando uma molécula de 4-cumaroil-CoA e três moléculas de malonil-CoA, dando origem à naringenina chalcona. Essa molécula constitui o esqueleto básico dos flavonoides. Em seguida, ocorre a ação da chalcona isomerase (CHI), que transforma a naringenina chalcona em naringenina, um intermediário fundamental na via de biossíntese dos flavonoides. A naringenina é então hidroxilada pela enzima flavanona 3-hidroxilase (F3H), originando o composto di-hidrokaempferol. A partir desse intermediário, a enzima flavonol 3'-hidroxilase (F3'H) adiciona um grupo hidroxila adicional, produzindo di-hidroquercetina. Por fim, a enzima flavonol sintase (FLS) converte a di-hidroquercetina na quercetina, completando o processo biossintético (Figura 3) (SINGH, *et al.*, 2021).

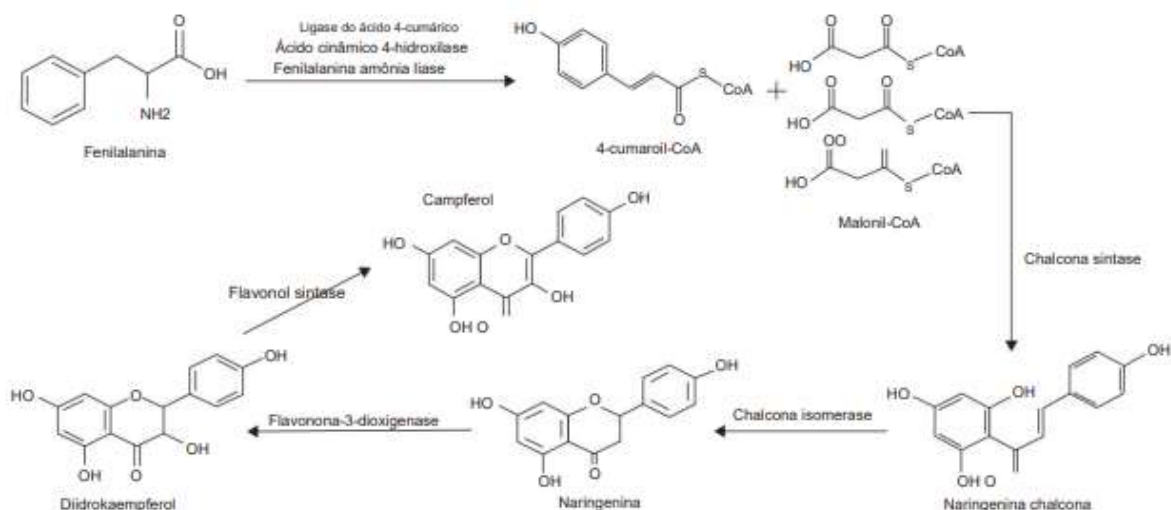
Figura 3 – Biossíntese da Quercetina.



Fonte: SINGH, *et al.* (2021).

O Kaempferol é um composto estruturado a partir do esqueleto de difenilpropano e sintetizado através da via do ácido chiquímico. Inicialmente, a fenilalanina é convertida em 4-cumaroyl-CoA, processo catalisado pelas enzimas fenilalanina amônia-liase, cinamato 4-hidroxilase e 4-cumarato ligase. Em seguida, três moléculas de malonyl-CoA e uma de 4-cumaroyl-CoA são condensadas para formar a naringenina, com a ação das enzimas chalcona sintase e chalcona isomerase. A naringenina é então hidroxilada no anel C3 pela enzima flavanona-3-dioxigenase, formando di-hidrokaempferol. No estágio final, a flavonol sintase cria uma dupla ligação entre C2 e C3 no di-hidrokaempferol, resultando na síntese do Kaempferol (Figura 4) (ALKANDAHRI, *et al.*, 2024).

Figura 4 - Biossíntese do Kaempferol.



Fonte: ALKANDAHRI, *et al.*, 2024.

A Quercetina, possui propriedades antimicrobianas bem conhecidas em plantas. Ela atua inibindo a síntese de ácidos nucleicos ao bloquear enzimas como a DNA girase, essencial para a replicação de DNA em procariontes, tornando-se um alvo estratégico para o desenvolvimento de antibacterianos. Estudos iniciais mostraram que a Quercetina inibe a DNA girase em *Escherichia coli*. Pesquisas adicionais *in silico* indicaram que a subunidade B da DNA girase nas bactérias *Mycobacterium tuberculosis* e *Mycobacterium smegmatis* é um possível alvo da Quercetina. Esse efeito foi reforçado pela descoberta de que a Quercetina se liga à subunidade B da girase, bloqueando o sítio de ligação do ATP ao formar ligações de hidrogênio com os grupos 3', 5 e 7-OH nos resíduos de aminoácidos da enzima (SINGH, *et al.*, 2021; LIGA, *et al.*, 2023).

Além da inibição da DNA girase, também foi observado que a Quercetina bloqueia o sítio de ligação do ATP na enzima D-alanina-D-alanina. Flavonoides relacionados, como Kaempferol e Crisina, mostraram igualmente fortes efeitos inibidores sobre a girase em *Escherichia coli*. Esses estudos indicam que grupos hidroxila nos flavonoides proporcionam uma ligação mais eficaz à girase do que grupos metoxi. Análises de encaixe molecular sugerem que os flavonoides inibem o superenrolamento do DNA ao competir com o ATP no sítio de ligação da subunidade B da girase (GyrB). Isso pode ocorrer devido à interação do flavonoide com o DNA, formando um complexo DNA-girase que induz a clivagem do DNA. Os grupos hidroxila 3-OH, 5-OH, 7-OH e a carbonila em posição 4 dos flavonoides interagem de forma dinâmica com os resíduos da GyrB (SINGH, *et al.*, 2021).

Além das girases, as topoisomerasas, também essenciais para a replicação do DNA, foram recentemente identificadas como alvos dos flavonoides. Tanto os flavonóis quanto as flavonas exibem afinidade de ligação com ácidos nucleicos, o que pode bloquear a atividade da helicase, interferindo na replicação do DNA (SINGH, *et al.*, 2021; LIGA, *et al.*, 2023).

4.3 Métodos de extração de flavonoides

A extração de flavonoides de extratos vegetais envolve várias etapas. Iniciando pela coleta do material e etapas prévias à extração. O pré-processamento inclui secagem, moagem e peneiração. A secagem é fundamental para reduzir a umidade da matéria-prima vegetal, garantindo sua conservação a longo prazo sem comprometer a qualidade. Antes da secagem, é recomendada uma pré-limpeza do material para remover impurezas. A moagem reduz o tamanho dos materiais sólidos por meio de impacto, compressão e abrasão, aumentando a relação superfície/volume e favorecendo a eficiência dos processos seguintes. A peneiração, por sua vez, separa componentes de tamanhos distintos em uma mistura sólida. Em seguida, ocorre o processo de extração, que pode utilizar diferentes métodos, seguido de secagem até a obtenção de extrato seco e, quando necessário, de purificação adicional (PIOVESAN, 2016).

Na extração, a planta, em forma inteira ou em partes, seca ou fresca, entra em contato com solventes sob condições controladas, como calor e agitação. Entre os métodos de extração sólido-líquido mais comuns estão técnicas tradicionais, como refluxo, soxhlet, maceração estática e dinâmica, além dos métodos não convencionais, como ultrassom, micro-ondas, fluido supercrítico e extração com solvente pressurizado (LIGA, *et al.*, 2023; PIOVESAN, 2016).

Após a extração dos compostos de interesse, o produto obtido geralmente é líquido, sendo comum a realização de processos pós-extrativos como filtração e secagem. Entre as técnicas de secagem estão o evaporador rotativo, o liofilizador e o *spray dryer*. No evaporador rotativo, a amostra é aquecida e evapora em direção ao condensador, permitindo a remoção de solventes em temperaturas mais baixas quando aplicado vácuo. Já o liofilizador realiza a secagem sem aquecimento, combinando congelamento e vácuo para promover a sublimação, em que a água passa diretamente do estado sólido ao gasoso. No *spray dryer*, o líquido contendo sólidos em solução ou suspensão é pulverizado em pequenas gotículas que entram em contato com ar quente, secando rapidamente (PIOVESAN, 2016).

4.4 Identificação e quantificação de flavonoides

A caracterização de flavonoides em matrizes vegetais requer o uso de técnicas instrumentais capazes de identificar e quantificar com precisão esses compostos, dada a complexidade estrutural e a diversidade química da classe. A escolha do método depende de fatores como a natureza da amostra, o tipo de flavonoide, a sensibilidade e seletividade desejadas, bem como os recursos laboratoriais e da infraestrutura disponíveis. A seguir, o Quadro 2 apresenta um resumo comparativo dos principais métodos utilizados na análise de flavonoides, abordando seus princípios, principais vantagens e limitações.

Quadro 2 - Métodos de identificação e quantificação de flavonoides.

Método	Princípio / Técnica	Vantagens	Limitações	Exemplos / Condições Específicas	Referências
Espectrofotometria (UV-Vis)	Complexação com Al^{3+} → formação de complexo amarelo, analisado por absorção no UV/Vis.	-Técnica simples, rápida e econômica; -Não requer solventes caros; -Baixa interferência de compostos fenólicos.	-Pouca seletividade para compostos individuais; -Pode não distinguir entre diferentes flavonoides.	Absorção aumentada por deslocamento batocrômico; cor amarela proporcional à concentração.	PEIXOTO, <i>et al.</i> (2012)
HPLC-DAD (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodos)	Separação cromatográfica em coluna C18 e detecção por DAD em comprimentos de onda específicos.	-Alta seletividade e precisão; -Identificação individual de flavonoides; -Análise de misturas complexas.	-Custo elevado de equipamentos e reagentes; -Tempo de análise maior.	Coluna C18, eluição em gradiente de metanol/ác. fórmico, detecção em: •270 nm (Rutina, Hiperosídeo) •330 nm (Kaempferol) •340 nm (Orientina, Miricetina, Luteolina, Quercetina, Apigenina).	KHULUK, <i>et al.</i> (2021); NCONGWANE, <i>et al.</i> (2023)
CG-MS (Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massas)	Separação e identificação de compostos voláteis com base na razão massa/carga (m/z).	-Alta sensibilidade; -Especificidade na identificação.	-Flavonoides são pouco voláteis e instáveis. -Requer derivatização.	Derivatização com BSTFA a 70 °C por 2 h (silação de -OH / -COOH) Coluna HP-5MS; EI a 70 eV; faixa m/z 40–600. Ex: Quercetina, Catequina, Resveratrol derivatizados.	OLIVEIRA, <i>et al.</i> (2022); NCONGWANE, <i>et al.</i> (2023); ALIMZHANOVA, <i>et al.</i> (2016); ROHLOFF (2015)
CG-FID (Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização por Chama)	Detecção de compostos voláteis via combustão dos analitos.	-Econômico; -Boa sensibilidade para compostos orgânicos.	-Requer derivatização para flavonoides.	Coluna HP-5MS, temperatura de 120–315 °C (aquecimento de 5 °C/min), injeção splitless a 280 °C, Hélio como gás de arraste (1,5 mL/min).	NKWOCHA, <i>et al.</i> (2024)

Fonte: Autoria própria, 2025.

4.5 Composição química das cebolas

A cebola (*Allium cepa L.*) é uma das hortaliças de maior relevância no cenário agrícola global, destacando-se por seu ciclo de cultivo curto, ampla adaptabilidade a diferentes condições climáticas e elevado valor nutricional e funcional. No Brasil, a cebola ocupa posição de destaque, sendo o 14º maior produtor mundial, o que representa cerca de 2% da produção global (SALVADOR E PEREIRA, 2021). Segundo o IBGE a quantidade de cebola produzida no Brasil em 2023 foi de aproximadamente 1,6 milhões de toneladas.

As cebolas apresentam grande diversidade morfológica, com bulbos que variam em forma, cor (amarela, roxa, branca, entre outras), pungência e teor de matéria seca. Tais características influenciam diretamente a composição fitoquímica dos diferentes cultivares, a qual pode variar significativamente em função das condições climáticas, tempo de cultivo etc. A composição química da cebola inclui carboidratos, aminoácidos, vitaminas, sais minerais e compostos sulfurados voláteis, estes últimos responsáveis pelo odor característico do vegetal. Possuem também compostos fenólicos, em especial flavonoides, que conferem à cebola um elevado valor funcional e terapêutico. Entre os flavonoides mais abundantes e estudados encontram-se a Quercetina e seus derivados glicosilados, o Kaempferol, a Miricetina. Nas variedades pigmentadas, como a cebola roxa, as antocianinas, especialmente derivadas da Cianidina, como cianidina-3-O-glicosídeo e seus glicoconjugados (SLIMESTAD, *et al.*, 2007).

Estudos revelam que as concentrações de flavonoides variam amplamente entre os cultivares. A Quercetina, presente sobretudo na forma de quercetina-4'-O-glucosídeo e quercetina-3,4'-O-diglicosídeo, é o flavonol predominante, seguida por menores concentrações de derivados de Kaempferol e Isorhamnetina. As antocianinas, por sua vez, representam aproximadamente 10% do total de flavonoides nas cebolas roxas, com cerca de 25 compostos distintos já identificados, incluindo oligômeros e derivados acilados de cianidina (SLIMESTAD, *et al.*, 2007).

A quantidade de flavonoides totais possui variações das camadas mais internas para as mais externas, sendo as cascas a parte mais rica desses compostos bioativos na cebola (SANTANA, 2015). Entretanto, estima-se que mais de 600 mil toneladas de resíduos de cebola se acumulem anualmente e a maior parte desses resíduos são descartados, portanto, uma alternativa de reaproveitamento e valorização desses resíduos do processamento da cebola seria através da recuperação dos flavonoides presentes na casca (LIMA, 2019).

4.6 Teste de atividade antibacteriana em disco difusão

O método de difusão em disco em ágar é uma das técnicas mais tradicionais e amplamente empregadas na avaliação da sensibilidade de microrganismos a agentes antimicrobianos, destacando-se pela simplicidade, baixo custo e boa reprodutibilidade. Nesse ensaio, discos de papel filtro impregnados com diferentes concentrações da substância em estudo são colocados sobre a superfície de um meio de cultura sólido, geralmente ágar Mueller-Hinton, previamente inoculado com a cepa bacteriana. Após a incubação, observa-se a formação de zonas de inibição, que são as áreas claras ao redor dos discos, que indicam a atividade antimicrobiana do composto testado. As condições de incubação variam conforme o microrganismo avaliado. Para *Escherichia coli*, por exemplo, recomenda-se incubação em aerobiose a 35 ± 1 °C por 18 ± 2 horas, conforme diretrizes do EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). O diâmetro das zonas de inibição é medido e comparado com padrões estabelecidos por comitês internacionais, permitindo a interpretação da sensibilidade ou resistência da cepa ao agente avaliado. A ausência de zona de inibição indica resistência da bactéria à substância testada. Como controle positivo, utiliza-se um antibiótico-padrão com atividade conhecida contra a cepa-alvo, escolhido de acordo com o perfil de sensibilidade esperado do microrganismo. A presença de zonas de inibição bem definidas ao redor do disco controle garante a validade do ensaio, possibilitando a comparação entre o antibiótico de referência e os compostos experimentais (SCORZONI, *et al.*, 2007; BrCAST-EUCAST, 2021).

A *Escherichia coli* é uma das bactérias mais versáteis e amplamente estudadas no mundo. Naturalmente presente no trato gastrointestinal de humanos e animais de sangue quente, essa espécie também é capaz de se desenvolver em diversos ambientes extraintestinais. A *E. coli* está associada a vários surtos de intoxicação alimentar. Além disso, a capacidade de adquirir resistência a antimicrobianos faz dela um desafio significativo no tratamento de infecções (OLIVEIRA ES., *et al.*, 2022).

5. PARTE EXPERIMENTAL

Essa seção descreve os procedimentos adotados para a execução deste estudo. Inicialmente, são apresentados os materiais, reagentes e equipamentos utilizados, seguidos pelos métodos de preparo das amostras, extração, identificação de Quercetina e Kaempferol presentes nas cascas de cebola roxa e amarela. Em seguida, são descritos os procedimentos

analíticos e os ensaios microbiológicos para avaliação da atividade antibacteriana dos extratos obtidos.

5.1 Materiais e reagentes

A seguir, estão listados os reagentes (Tabela 1), vidrarias, materiais e equipamentos (Tabela 2) empregados na execução dos procedimentos experimentais descritos neste estudo.

Tabela 1 - Listagem de reagentes utilizados nos procedimentos experimentais.

Reagente	Fabricante/Fornecedor
Água destilada	—
Água deionizada	—
Álcool etílico absoluto 99,8% P.A.	Neon Comercial Reagentes Analíticos LTDA
Ácido fórmico 98% P.A.	Neon Comercial Reagentes Analíticos LTDA
Padrão de Kaempferol $\geq 90\%$	Sigma-Aldrich
Padrão de Quercetina 99,32%	Chem-Impex
Álcool metílico HPLC	Neon Comercial Reagentes Analíticos LTDA
Ágar Triptona de Soja (TSA)	Kasvi
Salina estéril 0,9%	Neon Comercial Reagentes Analíticos LTDA
Dimetilsulfóxido (DMSO) $\geq 99,9\%$	Sigma-Aldrich
Antibiótico Gentamicina $\geq 590 \mu\text{g}/\text{mg}$	Sigma-Aldrich

Fonte: A autoria própria, 2025.

Tabela 2 - Listagem de materiais e equipamentos utilizados nos procedimentos experimentais.

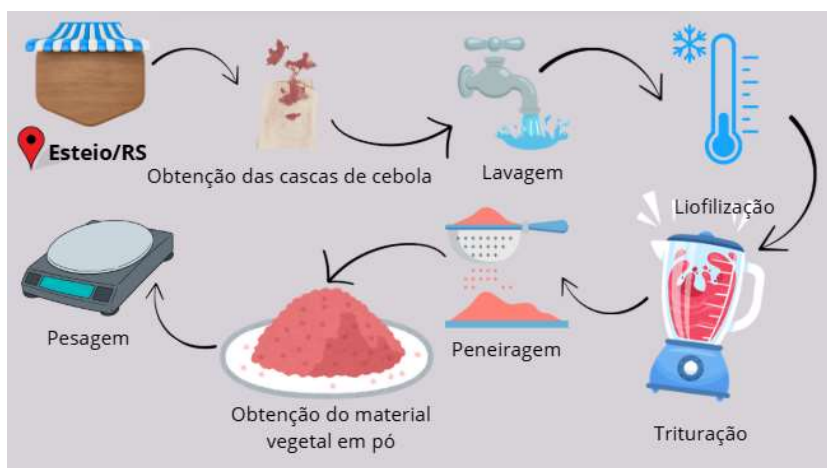
Material	Marca/Modelo
Béquer	—
Proveta	—
Pipeta	—
Micropipeta	—
Balão volumétrico	—
Balão de fundo chato	—
Funil de vidro	—
Papel filtro	—
Pote plástico hermético	—
Microtubo de 1 mL	—
Microtubo de 3 mL	—
Vial de 1 mL	—
Tubo Falcon	—
Placa de Petri 90x15 mm	—
Swab estéril	—
Ponteira P1000 μL	—
Ponteira P200 μL	—
Alça bacteriológica	—
Seringa de 10 mL	—
Filtro de 0,22 μm	—
Coluna C18 (150 mm \times 4,6 mm id, 5 μm)	Sigma-Aldrich
Peneira com abertura de 425 μm	Bertel Indústria Metalúrgica LTDA
Liquidificador industrial	Colombo Premium AR 2L
Balança analítica	Shimadzu AUW220D
Rotaevaporador	R-300 Buchi
Liofilizador	Liotop L101
CLAE-DAD	Shimadzu Prominence LC-20AT
Freezer	Consul Freezer 300
Espectrofotômetro	Thermoscientific Varioskan Lux
Estufa	New Lab

Fonte: A autoria própria, 2025.

5.2 Coleta e preparo das amostras

As cascas de cebola amarela e roxa foram adquiridas em mercados e fruteiras locais do município de Esteio, RS no mês de agosto de 2024. Inicialmente, foram lavadas com água corrente e em seguida enxaguadas com água destilada para a remoção de sujidades, como terra, por exemplo. Após a lavagem, as cascas foram congeladas em freezer a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, para posterior liofilização por 48 horas. As cascas secas foram trituradas em liquidificador industrial e peneiradas com peneira com malha de $425\text{ }\mu\text{m}$. Os materiais vegetais em pó obtidos foram pesados e depois acondicionados em recipientes plásticos herméticos e armazenados sob refrigeração de 4°C em geladeira (SAGAR E PAREEK, 2020). Na Figura 5 está ilustrado o esquema simplificado da metodologia empregada nessa etapa.

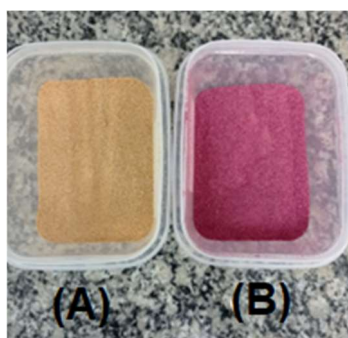
Figura 5 - Esquema simplificado da metodologia utilizada no preparo das amostras.



Fonte: Autoria própria, 2025.

A Figura 6 ilustra o material vegetal obtido após o processo de liofilização, trituração e peneiragem das cascas de cebola utilizadas neste estudo. A amostra identificada como (A) corresponde à casca de cebola amarela, enquanto (B) refere-se à casca de cebola roxa.

Figura 6 - Casca de cebola liofilizada obtida após a trituração e peneiragem, sendo (A) casca de cebola amarela e (B) casca de cebola roxa.

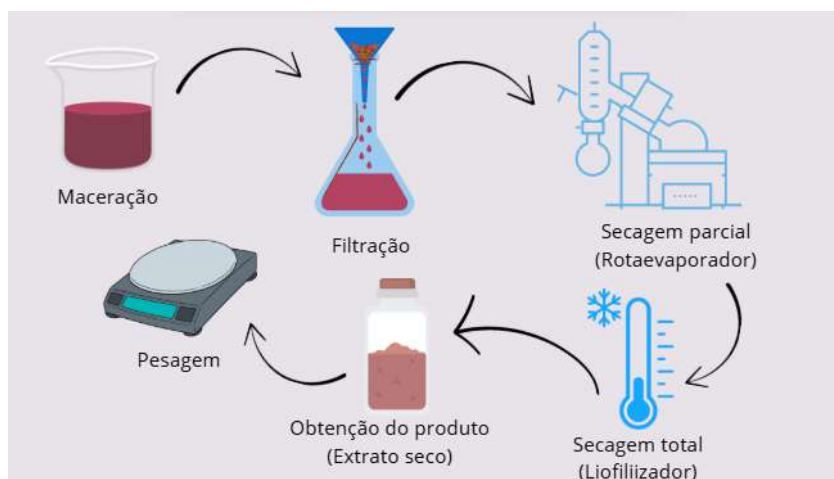


Fonte: Autoria própria, 2025.

5.3 Extração dos flavonoides

Cada amostra (de casca de cebola roxa e de casca de cebola amarela) foi submetida à extração separadamente, utilizando solução hidroalcoólica a 60% de etanol (v/v), na proporção de 1:20 (m/v), em béqueres (OLIVEIRA, *et al.* (2022)). As amostras foram mantidas em maceração por 96 horas à temperatura ambiente. Em seguida, os extratos foram filtrados sob pressão ambiente. A remoção do solvente foi realizada por meio de evaporação em rotaevaporador, sob temperatura de 65 °C e rotação de 120 rpm, visando eliminar o etanol e a maior parte da água. O restante da água foi removido por liofilização. Depois da secagem do solvente, os extratos secos foram pesados. Na Figura 7 está ilustrado o esquema simplificado da metodologia utilizada nessa etapa.

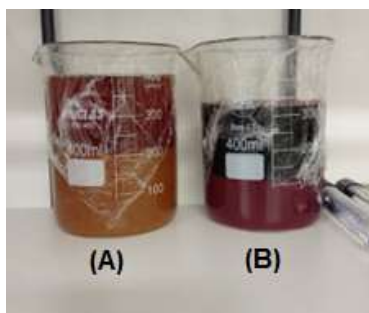
Figura 7 - Esquema simplificado da metodologia utilizada na extração dos flavonoides.



Fonte: Autoria própria, 2025.

A Figura 8 apresenta os extratos das cascas de cebola amarela e cebola roxa durante o processo de maceração em solução hidroalcoólica a 60% de etanol (v/v). O uso do filme plástico teve como objetivo minimizar a evaporação do solvente e prevenir a contaminação do extrato durante o período de extração.

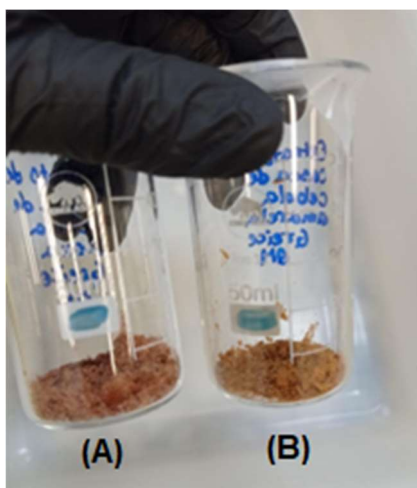
Figura 8 - Extratos de casca de cebola amarela (A) e roxa (B) macerando em solução hidroalcoólica de etanol 60%.



Fonte: Autoria própria, 2025.

A Figura 9 apresenta os extratos secos obtidos a partir das cascas de cebola roxa e cebola amarela, após o processo de remoção do solvente utilizado na extração.

Figura 9 - Extratos secos de casca de cebola roxa (A) e cebola amarela (B) obtidos após a secagem do solvente.



Fonte: Autoria própria, 2025.

5.4 Identificação e quantificação dos flavonoides no extrato seco

Para caracterizar os flavonoides presentes nos extratos secos das cascas de cebola roxa e amarela, foram preparadas soluções das amostras e dos padrões analíticos de Quercetina e Kaempferol. Em seguida, a identificação e quantificação foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodos (CLAE-DAD).

5.4.1 Preparo de soluções

Com o objetivo de avaliar a composição química dos extratos secos das cascas de cebola roxa e cebola amarela, foram preparadas soluções a partir das respectivas amostras. Para a quantificação dos flavonoides de interesse, Quercetina e Kaempferol, também foram elaboradas soluções padrão em diferentes concentrações, utilizadas na construção das curvas de calibração

analítica. A concentração das soluções-mãe tanto dos extratos quanto dos padrões foi de 1 mg/mL. O volume preparado para cada amostra foi de 1 mL, foram feitas triplicatas de todas as concentrações das amostras, tanto dos padrões analíticos, como dos extratos. O Quadro 3 apresenta os detalhes das soluções preparadas.

Quadro 3 - Preparo das soluções para análise e construção das curvas de calibração.

Tipo de solução	Composto	Solução de trabalho (mg/L)
Extrato seco	Cebola roxa	50,00
Extrato seco	Cebola amarela	50,00
Padrão analítico	Quercetina	0,500 ; 2,500; 5,000; 12,50; 25,00
Padrão analítico	Kaempferol	0,010; 0,025; 0,050; 0,075; 0,100

Fonte: Autoria própria, 2025.

5.4.2 Identificação e quantificação de flavonoides por CLAE-DAD

Para a identificação e quantificação dos flavonoides através do CLAE-DAD Shimadzu Prominence LC-20AT, foi utilizada uma coluna C18 (150 mm × 4,6 mm id, tamanho de partícula de 5 µm). A fase móvel constituída em metanol (A) e 0,2% de ácido fórmico em água (B), com o programa de eluição de gradiente descrito na Tabela 3. A vazão do sistema cromatográfico foi de 1 mL/min. A quantificação de flavonoides foi feita nos comprimentos de onda de 270, 330 e 340 nm e o volume de injeção de soluções padrão analítico e de extratos foi de 10 µL (KHULUK, et al., 2021).

Tabela 3 - Programa de eluição gradiente (KHULUK, et al., 2021)

Intervalo de Tempo (min)	Composição da Fase Móvel
0 – 10	15% A / 85% B
10 – 45	30% A / 70% B
45 – 50	50% A / 50% B
50 – 55	80% A / 20% B
55 – 60	95% A / 5% B
60 – 65	100% A / 0% B
65 – 70	15% A / 85% B

Fonte: Autoria própria, 2025.

5.5 Atividade antibacteriana

Foram testados os extratos de casca de cebola amarela e de casca de cebola roxa, ambos na concentração de 1 mg/mL solubilizados em DMSO 2%.

No primeiro dia de ensaio foi realizada a semeadura da bactéria *Escherichia coli* ATCC 35218, por técnica de esgotamento, no meio sólido Ágar Triptona de Soja (TSA). Em seguida as placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24h.

No dia seguinte foi realizado o teste de disco-difusão. Para tal, foi preparado uma suspensão bacteriana em solução salina estéril 0,9%. O inóculo foi ajustado a uma OD de 0,150 utilizando espectrofotômetro em comprimento de onda de 620 nm. Em seguida, o inóculo ajustado foi utilizado para o espalhamento em placa de TSA com auxílio de *swab* estéril. Posteriormente, foram colocados 50 µL dos dois extratos, 50 µL do antibacteriano Gentamicina (16 µg/mL) e 50 µL do controle do veículo (DMSO 1% + água destilada autoclavada) nos poços das placas.

As placas foram incubadas na estufa a 37°C por 24h, para posteriormente serem realizadas as medições dos diâmetros dos halos de inibição. Foram realizados 3 ensaios independentes com triplicatas técnicas.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção, são apresentados e analisados os resultados obtidos a partir da extração e quantificação da Quercetina e Kaempferol presentes nas cascas de cebola amarela e roxa, bem como a avaliação preliminar da atividade antibacteriana desses extratos. Inicialmente, discute-se o rendimento da extração dos compostos bioativos, seguido pela descrição da construção das curvas de calibração analítica para os flavonoides Quercetina e Kaempferol, utilizando a técnica CLAE-DAD. Em sequência, são apresentados os dados quantitativos referentes às concentrações desses flavonoides nos extratos secos. Por fim, são expostos os resultados dos testes microbiológicos para avaliação da atividade antibacteriana dos extratos contra a cepa padrão de *Escherichia coli* ATCC 35218.

6.1 Rendimento da extração

Após a etapa de extração dos compostos bioativos das cascas de cebola amarela e roxa, foi realizado o cálculo do rendimento obtido com base na massa inicial da amostra liofilizada e da massa final do extrato seco, utilizando a Equação 1. A Tabela 4 apresenta os dados correspondentes às quantidades de massa de casca de cebola liofilizada utilizada e massa dos extratos obtidos, bem como o rendimento percentual da extração para cada variedade de cebola.

$$\text{Rendimento (\%)} = \left(\frac{\text{massa do extrato seco}(g)}{\text{massa da amostra liofilizada}(g)} \right) \times 100\% \quad (1)$$

Tabela 4 - Informações de rendimento da extração.

Cor da cebola (<i>in natura</i>)	Massa da casca de cebola liofilizada (g)	Massa do Extrato seco de casca de cebola (g)	Rendimento (%)
Amarela	20,2279	1,6163	7,990
Roxa	15,2890	2,4535	16,05

Fonte: Autoria própria, 2025.

A cebola roxa apresentou maior rendimento de extração (16,05%) em comparação à cebola amarela (7,99%). Isso indica que, a partir de uma menor quantidade de casca liofilizada, a cebola roxa gera mais extrato seco, sugerindo maior concentração de compostos solúveis na solução hidroalcoólica a 60% etanol (v/v).

6.2 Caracterização por CLAE-DAD

6.2.1 Padrões de Quercetina e Kaempferol

Para a quantificação da Quercetina presente nos extratos secos das cascas de cebola roxa e cebola amarela, foi construída uma curva de calibração analítica com base em diferentes concentrações do padrão de Quercetina. A Tabela 5 apresenta os valores das áreas obtidas no cromatograma, registradas em triplicata para cada concentração analisada, além da média correspondente. As Figuras 10 e 11 ilustram graficamente a relação linear entre a concentração do padrão e a resposta analítica (área).

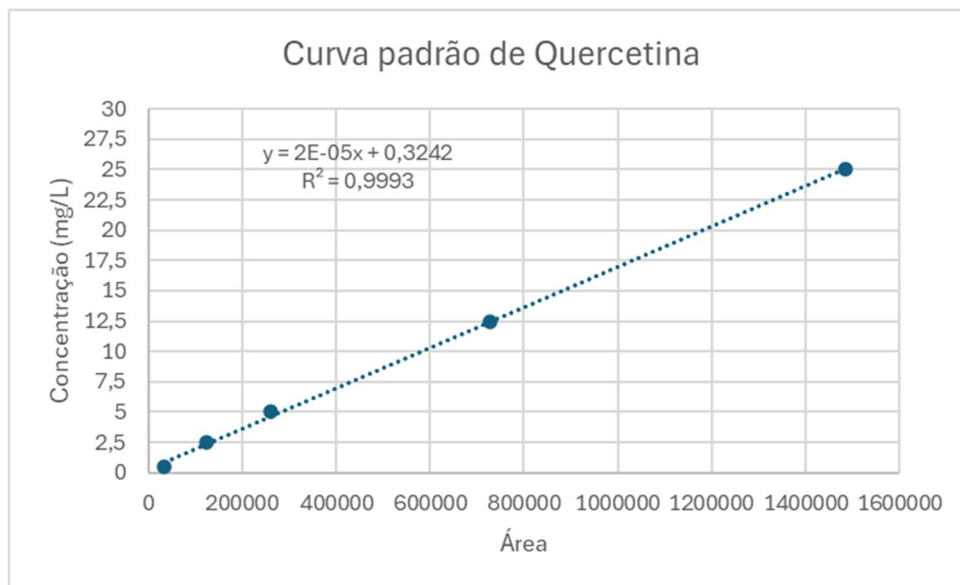
Tabela 5 - Concentrações do padrão de Quercetina e suas respectivas áreas no cromatograma em triplicata.

Concentração de Quercetina (mg/L)	Área 1	Área 2	Área 3	Média	Desvio padrão
0,500	38541	28727	35039	34102	±5026
2,500	138997	121857	111998	124284	±13716
5,000	285777	279465	218785	261342	±37038
12,50	734407	701167	748044	727872	±23969
25,00	1309853	1485764	1660736	1485451	±175217

Fonte: Autoria própria, 2025.

A partir das informações de concentração e média das áreas apresentadas na Tabela 5, foi construída a curva de calibração no programa Microsoft Excel para o padrão de Quercetina, exibida na Figura 10.

Figura 10 - Curva de calibração do padrão de Quercetina.



Fonte: Autoria própria, 2025.

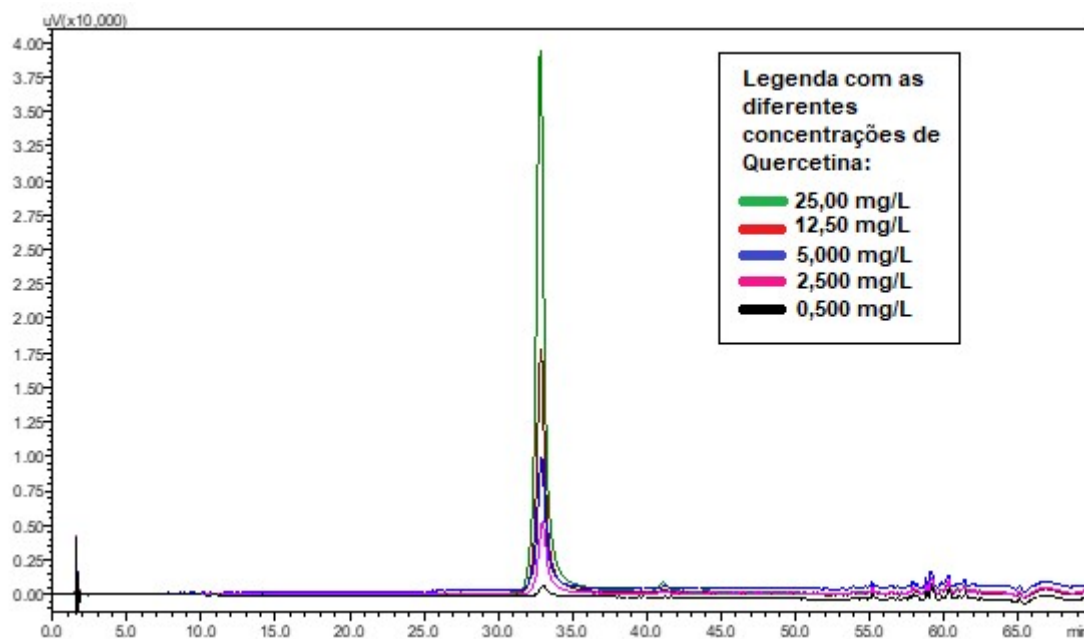
Esta curva permitiu a determinação da equação matemática que relaciona a área do pico no cromatograma à concentração de quercetina nos extratos secos. A equação obtida está descrita como Equação 2.

$$y = 2 \times 10^{-5}x + 0,3242 \quad (2)$$

Onde:

- y representa a concentração de Quercetina (mg/L);
- x corresponde à área do pico no cromatograma.

Figura 11 - Cromatograma com a sobreposição das áreas de diferentes concentrações de Quercetina.



Fonte: Autoria própria, 2025.

De maneira análoga, a Tabela 6 e as Figuras 12 e 13 apresentam os dados referentes à curva de calibração construída para o padrão de Kaempferol. A Tabela 6 apresenta os valores das áreas obtidas no cromatograma, registradas em triplicata para cada concentração analisada, além da média correspondente.

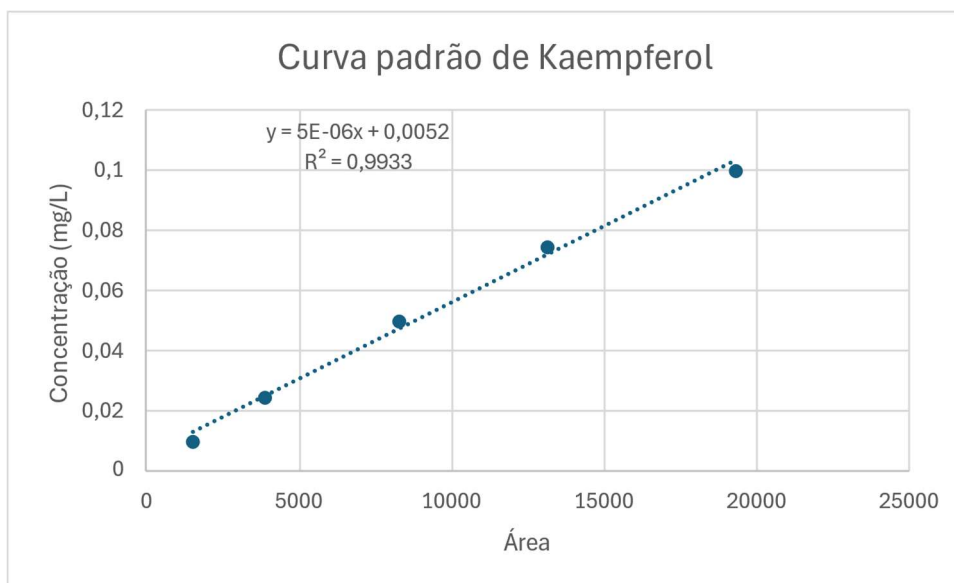
Tabela 6 - Concentrações do padrão de Kaempferol e suas respectivas áreas no cromatograma em triplicata.

Concentração (mg/L)	Área 1	Área 2	Área 3	Média	Desvio padrão
0,010	1308	1617	1602	1509	±174
0,025	3624	4425	3573	3874	±478
0,050	8315	7706	8683	8234	±493
0,075	13781	13609	11997	13129	±984
0,100	19985	20273	17505	19254	±1522

Fonte: Autoria própria, 2025.

A partir das informações de concentração e média das áreas apresentadas na Tabela 6, foi construída a curva de calibração no programa Microsoft Excel para o padrão de Kaempferol, exibida na Figura 12.

Figura 12 - Curva de calibração do padrão de Kaempferol.



Fonte: Autoria própria, 2025.

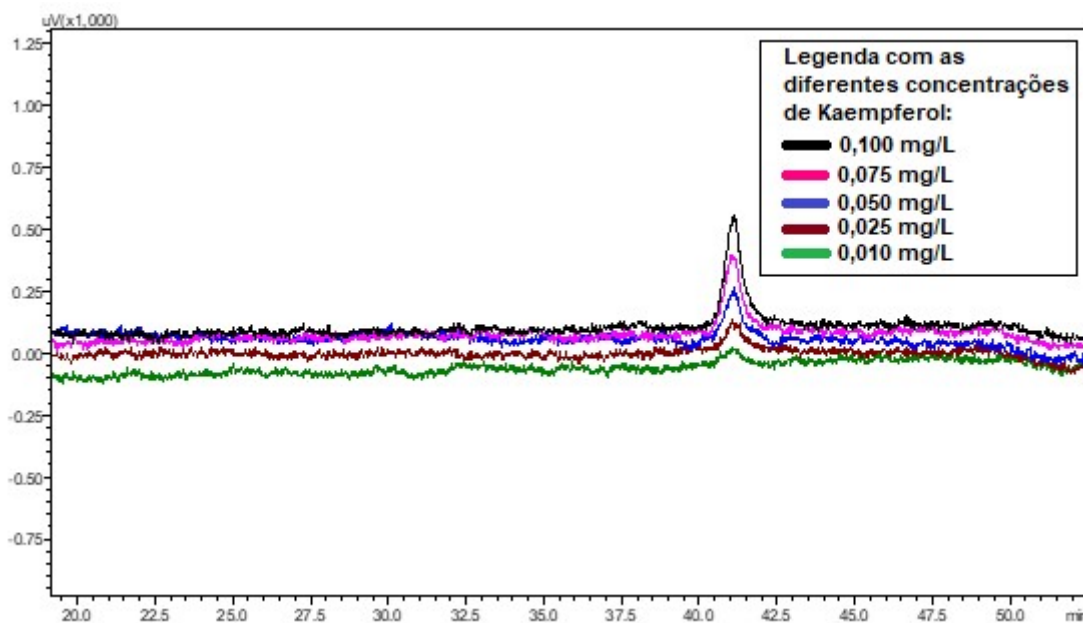
Da mesma forma que foi feito para o padrão de Quercetina, esta curva permitiu a determinação da equação matemática que relaciona a área do pico no cromatograma à concentração de Kaempferol nos extratos secos. A equação obtida está descrita como Equação 3.

$$y = 5 \times 10^{-6}x + 0,0052 \quad (3)$$

Onde:

- y representa a concentração de Kaempferol (mg/L);
- x corresponde à área do pico no cromatograma.

Figura 13 - Cromatograma com a sobreposição das áreas de diferentes concentrações de padrão de Kaempferol.



Fonte: Autoria própria, 2025.

Os valores de $R^2 = 0,9993$ para a curva de calibração analítica do padrão de Quercetina e de $R^2 = 0,9933$ para o padrão de Kaempferol indicam uma ótima correlação linear entre as áreas dos picos cromatográficos e as concentrações de Quercetina e Kaempferol.

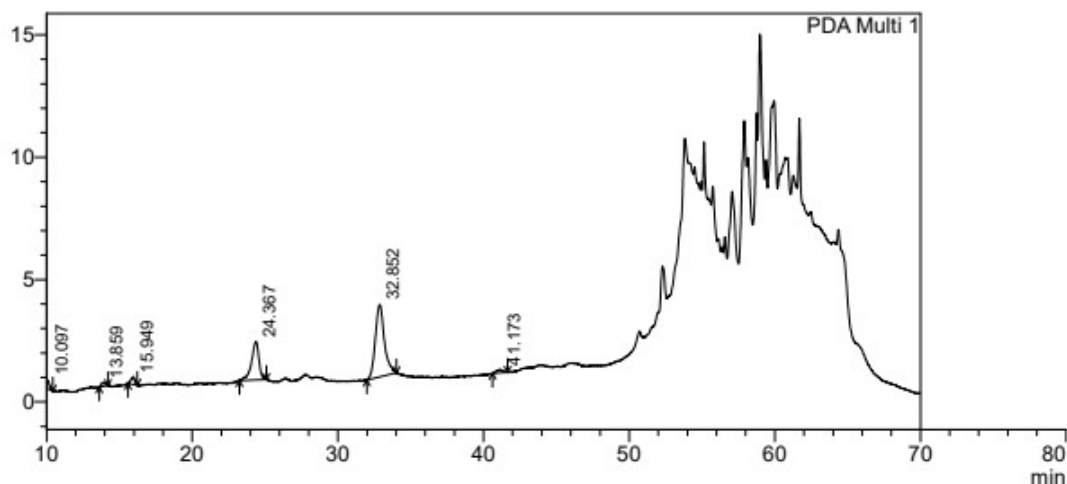
Através da Figura 11 podemos ver que o pico de Quercetina eluido com tempo de retenção próximo a 33,00 minutos e da Figura 13 o pico de Kaempferol em torno de 41,50 minutos, são consistentes em todas as concentrações. Isso indica reprodutibilidade do tempo de retenção, essencial para identificar corretamente os compostos. O aumento da altura e área do pico com a concentração é evidente, o que confirma a linearidade da resposta do detector, em linha com os valores de R^2 obtidos nas curvas padrão.

6.2.2 Análise quantitativa dos flavonoides nos extratos secos de casca de cebola amarela e roxa

Com o objetivo de quantificar os flavonoides presentes nos extratos secos das cascas de cebola amarela e roxa, foram realizadas análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodos (CLAE-DAD), com a varredura feita entre 270 e 340 nm. Na Figura 14 está o cromatograma obtido na análise da casca de cebola amarela e na Figura 15 está representada a tabela com os dados sobre os picos detectados, suas respectivas áreas e

tempos de retenção correspondes a varredura em 270 nm, que é o comprimento de onda ideal para o Kaempferol.

Figura 14 - Cromatograma do extrato de casca de cebola amarela.



Fonte: Autoria própria, 2025.

Figura 15 - Tabela com as áreas e tempos de retenção dos picos correspondentes ao cromatograma do extrato de casca de cebola amarela.

Peak#	Ret. Time	Área	Área %
1	10.097	5327	2.649
2	13.859	3176	1.579
3	15.949	5827	2.897
4	24.367	55554	27.622
Quercetina	32.852	127578	63.433
Kaempferol	41.173	3659	1.819
Total		201122	100.000

Fonte: Autoria própria (2025).

As determinações foram feitas em triplicata, a partir de soluções preparadas com os extratos, sendo que as concentrações de Quercetina e Kaempferol foram calculadas com base nas respectivas curvas de calibração analítica. A Tabela 7 apresenta os valores obtidos para a área dos picos cromatográficos correspondentes à Quercetina, bem como suas concentrações, determinadas por meio da Equação 2, previamente descrita.

Tabela 7 - Dados sobre a área dos picos e concentrações referentes a Quercetina presente no extrato de casca de cebola amarela.

Via	Área	Concentração (mg/L)
1	127578	2,8758
2	165275	3,6297
3	157711	3,4784
Média	150188	3,3279 mg/L

Fonte: Autoria própria, 2025.

A Tabela 8 mostra os dados referentes ao Kaempferol, incluindo as áreas dos picos e as concentrações calculadas com base na Equação 3, já previamente descrita.

Tabela 8 - Dados sobre a área dos picos e concentrações referentes ao Kaempferol presente no extrato seco de casca de cebola amarela.

Via	Área	Concentração (µg/L)
1	3659	23,5
2	5933	34,9
3	5776	34,1
Média	5123	30,8 mg/L

Fonte: Autoria própria, 2025.

A Tabela 9 apresenta um resumo dos resultados obtidos para a concentração média dos flavonoides Quercetina e Kaempferol no extrato seco das cascas de cebola amarela.

Tabela 9 - Resumo dos resultados sobre o extrato de casca de cebola amarela.

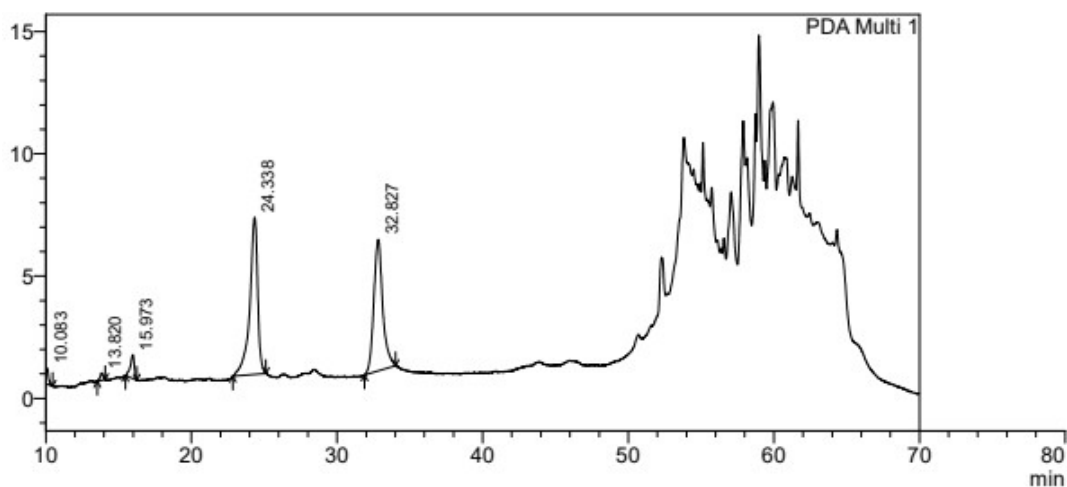
Composto	Concentração média (mg/L)	Desvio padrão
Quercetina	3,3	±0,4
Kaempferol	0,031	±0,005

Fonte: Autoria própria (2025).

A análise quantitativa dos flavonoides no extrato da casca de cebola amarela revelou que a Quercetina está presente em maior concentração média (3,3 mg/L), quando comparada ao Kaempferol (0,031 mg/L).

Na Figura 16 está o cromatograma obtido na análise da casca de cebola roxa e na Figura 17 está representada a tabela com os dados sobre os picos detectados, suas respectivas áreas e tempo de retenção, com a varredura em 270 nm.

Figura 16 - Cromatograma do extrato de casca de cebola roxa.



Fonte: Autoria própria (2025).

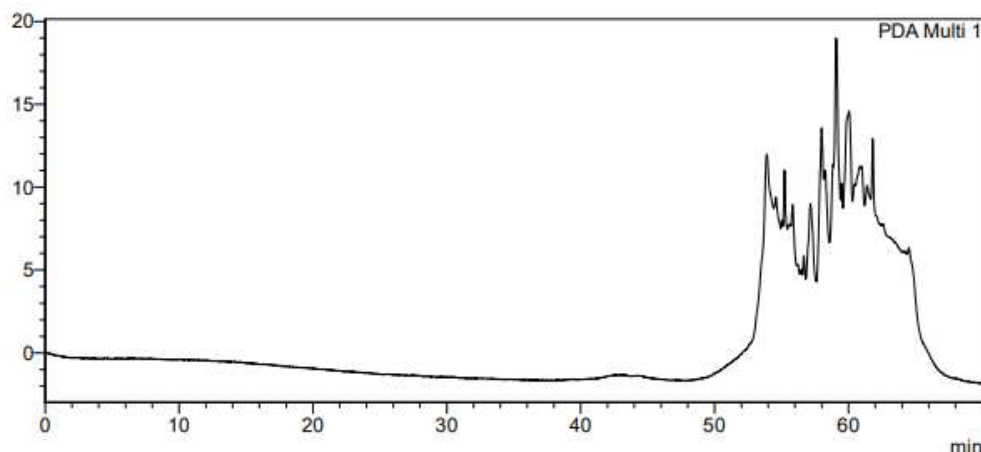
Figura 17 - Tabela com a área e tempo de retenção dos picos correspondentes ao cromatograma do extrato de casca de cebola roxa.

PDA Ch1 270nm 4nm			
Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	10.083	10661	2.104
2	13.820	4770	0.941
3	15.973	18295	3.610
4	24.338	243460	48.038
Quercetina	32.827	229618	45.307
Total		506804	100.000

Fonte: Autoria própria, 2025.

A Figura 18 é correspondente ao cromatograma apenas da fase móvel (branco), mostrando que os picos da saída, entre 50 e 60 min, não fazem parte das amostras.

Figura 18 – Cromatograma do branco.



Fonte: Autoria própria, 2025.

O cromatograma típico para o extrato da casca de cebola amarela (Figura 14) apresenta um perfil semelhante ao observado no cromatograma da casca de cebola roxa (Figura 16), considerando o número de compostos principais e seus respectivos tempos de retenção. No entanto, observa-se uma diferença importante: o pico correspondente ao Kaempferol ($T_R \approx 41,17$ min.), presente no extrato de casca de cebola amarela, estava ausente no extrato de casca de cebola roxa, indicando a ausência ou a concentração abaixo do limite de detecção desse composto nesta variedade. Além disso, o pico 4, presente em ambos os cromatogramas, apresenta maior intensidade no cromatograma do extrato de casca de cebola roxa, representando 48% da área do cromatograma em comparação ao do extrato de casca de cebola amarela que é de 27,6%, o que sugere uma maior concentração do composto associado a esse tempo de retenção nessa variedade.

A Tabela 10 apresenta os resultados obtidos a partir da análise cromatográfica do extrato seco de casca de cebola roxa, com foco na quantificação de Quercetina. Os dados referem-se às áreas dos picos obtidos por CLAE-DAD, as quais foram utilizadas para calcular a concentração do composto com base na Equação 2, previamente estabelecida a partir da curva de calibração analítica (Figura 10).

Tabela 10 - Dados sobre a área dos picos e concentrações referentes a Quercetina presente no extrato de casca de cebola roxa.

Amostra	Área	Concentração (mg/L)
1	236152	5,0472
2	229618	4,9166
3	237089	5,0650
Média	234286	5,0096 mg/L

Fonte: Autoria própria, 2025.

Os resultados apresentados na Tabela 10 indicam a presença de Quercetina no extrato da casca de cebola roxa, com uma concentração média de 5,01 mg/L e desvio padrão de $\pm 0,08$. A ausência de detecção de Kaempferol sugere que, nesta variedade e sob as condições experimentais utilizadas, o Kaempferol pode estar presente em níveis muito baixos ou ausente.

A Tabela 11 é um resumo comparativo da concentração de Quercetina nos extratos de casca de cebola amarela e casca de cebola roxa.

Tabela 11 - Resumo comparativo da concentração de Quercetina nos diferentes extratos.

Composto	Fonte	Concentração média (mg/L)	Desvio padrão
Quercetina	Extrato de Casca de cebola amarela	3,33	$\pm 0,39$
Quercetina	Extrato de Casca de cebola roxa	5,01	$\pm 0,08$

Fonte: Autoria própria, 2025.

A quantificação de Quercetina nos extratos secos das cascas de cebola amarela e roxa demonstrou uma diferença significativa na concentração deste flavonoide entre as duas variedades. A casca da cebola roxa apresentou uma concentração média de Quercetina de 5,01 mg/L, superior à encontrada na casca da cebola amarela (3,33 mg/L). Estes dados corroboram com a literatura, que indica um maior teor de compostos fenólicos totais, nas variedades de cebola de coloração roxa.

Para calcular a quantidade Quercetina e Kaempferol por grama de extrato seco foi utilizada a Equação 4.

$$mg/g \text{ de Extrato seco} = \frac{\text{Flavonoide (mg)}}{\text{Extrato seco (mg)}} \times 1000 \quad (4)$$

Foi analisada uma solução de 50 mg/L para cada extrato seco de casca de cebola. A concentração de Quercetina presente no volume analisado para a cebola amarela foi 3,33 mg/L e para a cebola roxa foi de 5,01 mg/L. A concentração de Kaempferol presente no volume analisado para a cebola amarela foi de 0,031 mg/L e na cebola roxa não foi encontrado. Os resultados sobre a quantidade de Quercetina e Kaempferol por grama de extrato seco estão demonstrados na Tabela 12.

Tabela 12 - Quantidade de Quercetina e Kampferol por grama de extrato seco.

Variedade de cebola	Quercetina (mg/g de extrato seco)	Kaempferol (mg/g de extrato seco)
Casca de cebola amarela	66,6	0,62
Casca de cebola roxa	100,2	—

Fonte: Autoria própria, 2025.

A quantidade de Quercetina obtida no extrato de casca de cebola amarela foi de 0,1076g e a de Kaempferol foi de 0,00097g. No extrato de casca de cebola roxa a quantidade de Quercetina obtida foi de 0,2458g. Esses dados, juntamente com as informações de massa de casca de cebola, sendo 20,2279g de casca de cebola amarela e 15,2890g de casca de cebola roxa, foram utilizados para calcular a quantidade de Quercetina e Kaempferol por quilo de casca de cebola (matriz vegetal), através da Equação 5.

$$g/kg \text{ de Casca de cebola} = \frac{\text{flavonoide (g)}}{\text{Casca de cebola (g)}} \times 1000 \quad (5)$$

Tabela 13 - Quantidade de Quercetina e Kampferol por quilo de extrato seco.

Variedade de cebola	Quercetina (g/kg de casca de cebola)	Kaempferol (g/kg de casca de cebola)
Casca de cebola amarela	5,00	0,048
Casca de cebola roxa	16,00	—

Fonte: Autoria própria, 2025.

Diante dos resultados obtidos neste estudo, observou-se que a casca de cebola roxa apresentou rendimento de extração de 16,05% e teor de quercetina de 100,2 mg/g de extrato seco. Destaca-se que neste trabalho foi adotado o uso da liofilização, que por operar a baixas temperaturas e sob pressão reduzida, pode ter contribuído para melhor preservação dos compostos fenólicos, reduzindo perdas por degradação térmica. Outro fator relevante é o tempo de extração, o presente estudo utilizou maceração por 96 horas, e essa extração prolongada em repouso pode ter favorecido uma maior difusão dos compostos fenólicos para o solvente. E em relação à análise química, este estudo utilizou CLAE-DAD, que é mais adequada para compostos fenólicos não voláteis como a Quercetina.

Dessa forma, a combinação dos métodos utilizados neste trabalho resultou em maior eficiência na extração e caracterização de Quercetina, evidenciando a eficácia do protocolo desenvolvido.

6.3 Atividade antibacteriana

Com o objetivo de avaliar a possível atividade antibacteriana dos extratos obtidos das cascas de cebola roxa e amarela, foram realizados ensaios utilizando a cepa padrão de *Escherichia coli* ATCC 35218. Os testes foram conduzidos com ambos os extratos na concentração de 1 mg/mL, com o antibiótico gentamicina como controle positivo e uma solução de DMSO 1% como controle negativo. No terceiro dia do ensaio, foi realizada a leitura dos

diâmetros dos halos de inibição. Os dados estão apresentados nas Figura 18, bem como na Tabela 14.

Figura 14 - Inóculo bacteriano, evidenciando a formação de halo de inibição apenas para o antibacteriano gentamicina.



Fonte: Isadora Pinto Loureiro, 2025.

Tabela 15 - Relaciona as medidas obtidas, em mm, dos halos de inibição após 24h. Foi realizada a média dos valores dos halos de cada replicata dos 3 inóculos, e após uma média geral, juntamente com o desvio-padrão.

	Antibacteriano gentamicina (16 µg/mL)	Extrato de casca de cebola roxa (1 mg/mL)	Extrato de casca de cebola amarela (1 mg/mL)	Controle Veículo
Halo de inibição (mm)	22,6 ± 0,5	0	0	0

Fonte: Isadora Pinto Loureiro, 2025.

Os resultados obtidos no ensaio de disco-difusão demonstraram que, nas condições avaliadas, os extratos das cascas de cebola roxa e amarela, ambos na concentração de 1 mg/mL, não apresentaram atividade frente à cepa *Escherichia coli*. Conforme apresentado na Figura 17 e na Tabela 18, não foram observados halos de inibição nas amostras tratadas com os extratos, assim como no controle do veículo. Por outro lado, o antibacteriano gentamicina, utilizado como controle positivo, apresentou halos de inibição bem definidos, com média de 22,6 ± 0,5 mm, confirmando a viabilidade do ensaio.

Durante a preparação das amostras, observou-se dificuldade na solubilização dos extratos em DMSO e água destilada, mesmo após a utilização de ultrassom e temperatura. Essa limitação é relevante, pois poucos solventes são adequados para os ensaios microbiológicos, uma vez que muitos deles apresentam toxicidade para os microrganismos, podendo interferir nos resultados.

Esses dados sugerem que, embora os extratos contenham flavonoides bioativos como Quercetina e Kaempferol, a concentração testada (1 mg/mL) pode não ter sido suficiente para inibir o crescimento bacteriano.

Estudos complementares com concentrações maiores, utilizando outros solventes capazes de solubilizar os extratos vegetais de casca de cebola e ao mesmo tempo compatíveis com as culturas bacterianas ou a avaliação frente à outras cepas bacterianas podem ser necessárias para aprofundar a investigação da atividade antibacteriana dos extratos de casca de cebola.

7. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que as cascas de cebola roxa apresentaram maior rendimento na extração de flavonoides e maiores concentrações de Quercetina quando comparadas à cebola amarela, confirmando dados da literatura sobre o maior teor de compostos fenólicos nas variedades roxas.

O composto Kaempferol foi detectado apenas nas amostras de cebola amarela, ainda que em baixa concentração, enquanto esteve ausente nas amostras de cebola roxa.

Apesar da elevada concentração de Quercetina nos extratos, não foi observada atividade antibacteriana contra a cepa *Escherichia coli*, o que pode estar relacionado a limitação de solubilidade dos extratos, e assim, a concentração testada (1 mg/mL). A preparação das amostras exigiu o uso de DMSO 2% e água destilada, solventes comumente aceitos em testes microbiológicos por apresentarem baixa interferência a análise.

Entre as limitações deste trabalho, destaca-se a avaliação da atividade antimicrobiana frente a apenas uma cepa bacteriana. Assim, recomenda-se que estudos futuros incluam um espectro mais amplo de microrganismos, além de investigar diferentes concentrações dos extratos e métodos de solubilizar os extratos com solventes compatíveis com as cepas bacterianas ou formulações que favoreçam a liberação dos compostos bioativos.

Dessa forma, este trabalho buscou contribuir para o conhecimento sobre o uso de cascas de cebola, importante resíduo agroindustrial, como matéria prima para a obtenção de compostos bioativos.

REFERÊNCIAS

- ALIMZHANOVA, M.; MAKHAYEVA, D. Identification of flavonoids in plant samples by gas chromatography-mass spectrometry with pre-derivatization. **International Journal of Biology and Chemistry**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 46–51, 2016. DOI: 10.26577/2218-7979-2016-9-1-46-51.
- ALKANDAHRI MY, SADINO A, PAMUNGKAS BT, et al. Potential Nephroprotective Effect of Kaempferol: Biosynthesis, Mechanisms of Action, and Clinical Prospects. **Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences**, 8907717, 17 páginas. doi:10.1155/2024/8907717
- BrCAST-EUCAST. Teste de sensibilidade aos antimicrobianos - Método de disco-difusão BrCAST-EUCAST. **BrCast**, 0:1-29, 2021
- KHULUK, RH, YUNITA, A., ROHAETI, E., SYAFITRI, UD, LINDA, R., LIM, LW, TAKEUCHI, T., & RAFI, M. An HPLC-DAD Method to Quantify Flavonoids in *Sonchus arvensis* and Able to Classify the Plant Parts and Their Geographical Area through Principal Component Analysis. **Separations**8, no. 2: 12, 2021. <https://doi.org/10.3390/separations8020012>
- LIGA, S.; PAUL, C.; PÉTER, F. Flavonoides: Visão Geral da Biossíntese, Atividade Biológica e Técnicas Atuais de Extração. **Plants (Basel)**, 12 , 2732, 2023. <https://doi.org/10.3390/plants12142732>
- LIMA, VM. Influência da extração assistida por ultrassom no processo de maceração dinâmica na extração de compostos presentes em resíduos do processamento de batata e de cebola. **Published online**,0-87, 2019. <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/49810>
- NCONGWANE TB, NDINTEH DT, SMIT E. Automated silylation of flavonoids using 3D printed microfluidics prior to chromatographic analysis: system development. **Anal Bioanal Chem**, 415(29-30):7151-7160, 2023. doi:10.1007/s00216-023-04981-4
- NKWOCHA CC, FELIX JO, MICHEL LO, ALE BA. Phytochemical screening and GC-FID identification of bioactive compounds in n-hexane, ethylacetate and methanol fractions of methanolic leaves extract of *Azanza garckeana*. **Food Chemistry Advances**, 4:100712, 2024 doi:10.1016/j.focha.2024.100712
- OLIVEIRA, Érica S. ; CARDOSO, D. T. ; BARBOSA, R. T. P. ; COSTA, N. B. de .; SANTOS, B. A. ; SOUSA, T. C. de .; MOUCHREK , A. N. ; TELES, A. M. Antimicrobial activity of plant extracts on self-service restaurant salad fertilizers. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 8, p. e17511830345, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i8.30345.
- OLIVEIRA, V. M.; REGINATO, G. S.; LEAL, S. S. R.; ÁVILA, S.; GONÇALVES, J. E.; FELIPE, D. F.; FERRARI, A.. Composição fenólica e potencial antioxidante da casca da cebola roxa. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.13, n.6,

p.167-181, 2022. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2022.006.0014>

PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S. et al.. Teor de flavonóides totais em produtos contendo pata-de-vaca (*Bauhinia L.*) comercializados em farmácias de Recife/PE. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 586–591, 2012.

PIOVESAN N. Influência de diferentes parâmetros em métodos de extração de compostos bioativos de mirtilo (*Vaccinium ashei Reade*) e atividade antioxidante e antimicrobiana. **Published online**,0-119,2016.
<https://repositorio.ufsm.br/handle/1/3418>

ROHLOFF, J. Analysis of Phenolic and Cyclic Compounds in Plants Using Derivatization Techniques in Combination with GC-MS-Based Metabolite Profiling. **Molecules**, 20(2): 3431-3462, 2015. <https://doi.org/10.3390/molecules20023431>

SAGAR NA, PEREEK S. Antimicrobial assessment of polyphenolic extracts from onion (*Allium cepa L.*) skin of fifteen cultivars by sonication-assisted extraction method. **Heliyon**, 6(11):e05478, 2020. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05478

SALVADOR CA, PEREIRA JR. Prognóstico agropecuário de olericultura. **ISSN**, v.13 (37): 2764-2887, 2021. Published online.
https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2022-01/Oleri.pdf, acesso em 06 de julho de 2025.

SANTANA, ATMC. Resíduo de cebola (*Allium cepa L.*) como conservante natural em carne. **Published online**, 0:76, 2015.
<https://pdfs.semanticscholar.org/66c0/8753a8c3f028d8a258be5096ec980078ddb0.pdf>

SCORZONI L, BENADUCCI T, ALMEIDA AMF, SILVA DHS, BOLZANI VS, MENDES-GIANNINI MJS. Comparative study of disk diffusion and microdilution methods for evaluation of antifungal activity of natural compounds against medical yeasts *Candida* spp and *Cryptococcus* sp. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 28(1):25-34, 2007.

SIMÕES, CLÁUDIA M O.; SCHENKEL, ELOIR P.; MELLO, JOÃO C P.; et al. **Farmacognosia**. Porto Alegre: ArtMed, 2017. E-book. p.208. ISBN 9788582713655. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788582713655/>.

SINGH P, ARIF Y, BAJGUZ A, HAYAT S. The role of quercetin in plants. **Plant Physiol Biochem**,166:10-19, 2021. doi:10.1016/j.plaphy.2021.05.023

SLIMESTAD R, FOSSEN T, VAGEN IM. Onions: A source of unique dietary flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,55(25):10067-10080, 2007. doi:10.1021/jf0712503